Machine Translated by Google

ARTIGO DE PESQUISA

Erradicação de *E. coli, S. aureus, K. pneumoniae, S. pneumoniae, A. baumannii* e *P. aeruginosa resistentes* a antibióticos com Dióxido de Cloro *In Vitro*

George Georgiou - Investigador Principal – admin@docgeorge.com
Agnieszka Kotzé – Pesquisadora - aggie.kotze@gmail.com

ABSTRATO

A resistência bacteriana aos antibióticos (RAM) é um problema em todas as regiões, com seis patógenos responsáveis por 73,4% das mortes atribuíveis à RAM bacteriana, ou seja, *Escherichia coli* (E. coli), *Staphylococcus aureus* (S. aureus), *Klebsiella pneumoniae* (K. pneumoniae), *Streptococcus pneumoniae* (S. pneumoniae), *Acinetobacter baumannii* (A baumannii) e *Psuedomonas aeruginosa* (P. aeruginosa). A Organização Mundial da Saúde instigou um Plano de Ação Global sobre RAM em 2021, que ainda está ativo - os custos de saúde para RAM chegam a muitos bilhões de dólares em todo o mundo. Uma revisão sobre resistência antimicrobiana encomendada pelo governo britânico argumentou que a RAM poderia matar 10 milhões de pessoas por ano até 2050 e emergiu como uma das maiores ameaças à saúde pública do século XXI. Apenas um patógeno AMR, *Staphylococcus aureus resistente à meticilina* (MRSA), causou mais de 100.000 mortes em todo o mundo, com os outros quatro patógenos cobertos nesta pesquisa causando o mesmo número de mortes novamente. Esta pesquisa se concentrou no estudo da eficácia do dióxido de cloro na erradicação de cinco diferentes bactérias AMR in vitro como um tratamento novo e eficaz. Este estudo usou diferentes concentrações de dióxido de cloro com cinco bactérias resistentes a antibióticos, variando de 1 a 7 ppm de concentração. Os estudos de desinfecção foram comparados aos controles, e os resultados demonstraram uma desinfecção superior a 95% com concentrações de 7 ppm. O dióxido de cloro é um agente antimicrobiano seletivo de tamanho que pode matar organismos do tamanho de um mícron rapidamente, mas não causará danos reais a organismos muito maiores, como animais ou humanos, pois não pode penetrar profundamente em seus tecidos vivos. É seguro quando usado em baixas concentrações por curtos períodos. Ensaios clínicos devem ser realizados para ganhar experiência nas melhores dosagens e protocolos para erradicar microrganismos resistentes a antibióticos do corpo.

ACESSO LIVRE

Publicação: 30 de junho de 2023

Citação: Georgiou G, Kotzé A, et al., 2023. Erradicação de *E. coli* resistente a antibióticos , S. aureus, K. pneumoniae, S. pneumoniae, A. baumannii e *P. aeruginosa* com dióxido de cloro *in vitro,* médico Arquivos de pesquisa, [online] 11(6).

https://doi.org/10.18103/mra.v11i7.2.4218

Direitos autorais: © 2023 Sociedade Europeia de Medicina. Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da Creative Commons Attribution License, que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

DOI

https://doi.org/10.18103/mra.v11i7.2.4218

ISSN: 2375-1924

Machine Tra

Introdução

As cinco bactérias resistentes a antibióticos que incorporamos neste estudo de pesquisa incluíram *Escherichia coli, Staphylococcus aureus resistente à meticilina, Klebsiella pneumonia, Acinetobacter baumannii e Pseudomonas aeruginosa.*

O Grupo Banco Mundial em 20171 alertou que 2050 infecções resistentes a medicamentos podem causar danos econômicos globais em comparação com a crise financeira de 2008. A RAM também ameaça a realização de vários objetivos de desenvolvimento sustentável das Nações Unidas, particularmente as metas de boa saúde e bem-estar. 2

Os custos hospitalares foram estimados em mais de € 900 milhões em 2007. 3 Os custos ambulatoriais foram de 10 milhões, e a perda de produtividade do trabalho foi de € 150 milhões. Além disso, a perda de produtividade devido à infecção de mortalidade foi estimada em aproximadamente € 450 milhões por ano. Esses custos econômicos serão consideravelmente maiores usando os números relatados na Carga Global da resistência antimicrobiana bacteriana no relatório de 2019. [4]

Dada a natureza generalizada das bactérias AMR em todo o mundo e que os antibióticos estão se tornando cada vez menos eficazes, é essencial encontrar outras formas mais naturais e novas de erradicar esses assassinos.

O dióxido de cloro é uma maneira segura e eficaz de eliminar essas bactérias AMR sem criar mais resistência.

A descoberta de novos agentes antibacterianos de origem natural com novos mecanismos de ação continua sendo uma prioridade global. 5

Pós-tratamento de bactérias resistentes a antibióticos

Mais de 150 antibióticos foram desenvolvidos desde a descoberta da penicilina em 1940, e para a maioria dos antibióticos disponíveis, tem surgido resistência às bactérias que estão sendo tratadas. 6 Com base nisso, até 2050, o número de mortos pode ser impressionante - uma pessoa a cada três segundos. As bactérias resistiram quase todos os antibióticos desenvolvidos nos últimos 50 anos. [4]

Existe uma correlação positiva entre o uso e a prevalência de antibióticos com taxas mais altas em países com maior uso. 6 Inapropriado prescrição por médicos que prescrevem incorretamente antibióticos para outras infecções, como infecções virais ou fúngicas, em vez de infecções bacterianas. Existe a hipótese de que o uso excessivo de antibióticos esteja correlacionado com a prescrição e administração inadequadas de antibioticoterapia. 7 O uso irresponsável de antibióticos é o problema central da resistência aos antibióticos.

A influência dos antibióticos está diminuindo devido ao aumento progressivo da resistência observada entre todos os antimicrobianos. 8 O aumento da resistência a antibióticos é impulsionado por uma combinação de germes expostos a antibióticos e a disseminação desses germes e seus mecanismos de resistência. Os antibióticos não só estão se tornando menos eficazes, como seu uso também pode causar disbiose, principalmente nos intestinos ou em locais de infecções secundárias. Os efeitos na saúde humana podem ser catastróficos: a reutilização excessiva de antibióticos demonstrou destruir a maior parte da flora intestinal natural. 9

Os farmacêuticos também não estão dispostos a investir no desenvolvimento de antibióticos por vários motivos, incluindo baixos retornos no mercado, restrições ao uso de antibióticos, dificuldades científicas no desenvolvimento de antibióticos e o ambiente regulatório existente. 3 O caminho para encontrar novos antibióticos e transformá-los em medicamentos é longo e caro. Custa de 800 milhões a 1 bilhão de dólares para lançar um novo medicamento no mercado; em média, leva mais de dez anos para entrar na clínica. 8 Devido à pressão de tempo que enfrentamos na batalha contra a RAM, é necessária uma abordagem diferente para explorar alternativas à antibioticoterapia.

Em comparação com todas as causas subjacentes de morte no Estudo Global de Carga de Doenças, Lesões e Fatores de Risco (GBD) 2019, a resistência antimicrobiana (AMR) teria sido a terceira principal causa de morte de nível 3 de GBD em 2019, com base no contrafactual de nenhuma infecção; apenas doença cardíaca isquêmica e acidente vascular cerebral foram responsáveis por mais mortes do que 10 Além disso, muitos patógenos nosocomiais podem anotar. não ser eliminado pela limpeza habitual; assim, podem sobreviver por longos períodos em hospitais, ar interno e superfícies e contribuir para a transmissão de infecções. 11

Tratamentos alternativos representam um campo promissor de investigação. É, portanto, imperativo que novos e inovadores tratamentos de AMRs sejam buscados, e este é o fundamento desta pesquisa - usando substâncias naturais para erradicar AMRs como MRSA, E coli, S aureus, K pneumoniae, A baumannii *e* P *aeruginosa ,* que não criam mais resistência.

A descoberta de novos agentes antibacterianos de origem natural com novos mecanismos de ação continua sendo uma prioridade global. 5

Os antimicrobianos naturais têm sido usados com sucesso no tratamento de bactérias12 e têm sido a principal fonte de medicamentos ao longo da existência humana, qual não se deve esquecer. Produtos naturais, incluindo plantas medicinais, continuam amplamente populares hoje, com aproximadamente 80% da população mundial contando com produtos fitoterápicos e suplementos relacionados como parte de seu regime de saúde. [13]

Produtos naturais como *Rosmarinus officinalis12* e *Mangifera indica* L., Anacardiaceae, 14 peptídeos antimicrobianos, óleos essenciais de plantas e suas combinações provaram ser bastante eficazes na inibição de uma ampla seleção de patógenos bacterianos, incluindo as cinco bactérias AMR neste estudo. 15

Machine Tra

Esta pesquisa examina a erradicação de MRSA resistente a antibióticos, *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* com ampolas de CDSpureÿ contendo 2.990 ppm por ampola de 5 ml16 de dióxido de cloro in vitro.

Importância dos cinco antimicrobianos resistentes bactérias

Acinetobacter Baumannii

Acinetobacter baumannii, compreende bactérias gram-negativas, estritamente aeróbias, não fermentadoras, não fastidiosas, não móveis, catalase-positivas e oxidase-negativas. 22,23

Embora *o A. Baumannii* seja responsável por uma porcentagem relativamente baixa de casos gerais de bacteremia, a resistência a múltiplos medicamentos é globalmente problemática para isso. multimedicamentosa24 Globalmente, mais de 71% são espécies resistente. 25 Nos Estados Unidos, 27% dos pacientes em ventilação mecânica foram colonizados por *A. baumannii* multirresistente . *26 A. baumannii* utiliza variedade resistência estratégias, incluindo ÿ-lactamases cromossômicas, bombas de efluxo e enzimas modificadoras de aminoglicosídeos. Após a exposição à albumina sérica humana, *A. baumannii* aumenta a transcrição de ÿ lactamases, indicando mecanismos de resistência antimicrobiana potencialmente inerentes no soro. 27

Devido à prevalência de infecções e surtos causados por A. baumannii multirresistente , poucos antibióticos são eficazes no tratamento de condições causadas por esse patógeno. 28. Muitos relatórios mostraram que *A. baumannii* desenvolve rapidamente resistência a antimicrobianos, e cepas multirresistentes foram isoladas. 29 A Organização Mundial da Saúde (OMS) também designou *o A. baumannii* como um patógeno de prioridade crítica que representa uma ameaça significativa à saúde humana e para o qual novos antibióticos são urgentemente necessários. 30

Escherichia coli

E. coli frequentemente resiste a várias classes de antimicrobianos entre as cepas que causam ITU e bacteremia superior a 50%. 32 *E. coli* é uma das principais causas de doenças diarreicas, peritonite, colite, bacteremia, mortalidade infantil e infecções do trato urinário em todo o mundo, custando bilhões de dólares para tratar e matando cerca de 2 milhões de humanos anualmente. 33

E. coli é uma bactéria Gram-negativa versátil, facilmente encontrada e passível de alteração genética natural e aleatória. 34 Tem 1-3 x 0,4-0,7 µm de tamanho
e 0,6 a 0,7 µm em volume. 35

Klebsiella pneumoniae K. *pneumoniae* são comumente classificadas como oportunistas, hipervirulentas (hyKp) ou multirresistentes (MDR). 36 Enquanto a clássica *K. pneumoniae* (cKp) consiste em cepas oportunistas frequentemente associadas a infecções, as cepas hipervirulentas são consideradas como bactérias adquiridas na comunidade que podem infectar pessoas de todas as idades, incluindo indivíduos saudáveis. 37,38 A rápida disseminação de cepas *de K. pneumoniae* multirresistentes é uma grande ameaça à saúde global,
pois essas cepas são responsáveis por muitas infecções hospitalares com alta morbidade e mortalidade.
Klebsiella pneumonia, é descrita como uma bactéria gram negativa, encapsulada e imóvel. 39

Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA)

O MRSA é considerado um dos patógenos nosocomiais mais perigosos, causando muitas infecções difíceis de tratar em hospitais e foi denominado MRSA associado ao hospital (HA-MRSA). 40 Nos últimos 20–
25 anos, o MRSA foi isolado de ambientes comunitários e, portanto, o MRSA associado à comunidade (CA MRSA) surgiu. 40
O MRSA pode causar várias infecções específicas de órgãos, sendo as mais comuns a pele e os tecidos subcutâneos, seguidas por infecções invasivas como osteomielite, meningite, pneumonia, abscesso pulmonar e empiema. A endocardite infecciosa causada por MRSA está associada ao aumento da morbidade e mortalidade em comparação com outros organismos e está ligada ao abuso de drogas intravenosas. 41

Staphylococcus resistente à meticilina (MRSA) é áureo um coco gram-positivo que é tanto catalase quanto coagulase-positivo. 42

Pseudomonas aeruginosa

A P. aeruginosa está entre as cinco principais causas de bacteremia nosocomial, freqüentemente levando à sepse. 43

P. aeruginosa é um importante patógeno oportunista Gram-negativo que causa muitas infecções graves agudas e crônicas com altas taxas de morbidade e mortalidade de até 40%. O que torna *a P. aeruginosa* um patógeno particularmente desafiador é sua alta resistência intrínseca e adquirida a muitos dos antibióticos disponíveis. 44

É um patógeno humano oportunista capaz de causar muitas infecções agudas e crônicas com risco de vida, particularmente em pacientes com defesa imunológica comprometida. É particularmente importante, pois é a principal causa de morbidade e mortalidade em pacientes com fibrose cística (FC). é um dos top

patógenos nosocomiais que afetam pacientes hospitalizados enquanto intrinsecamente resistentes a uma ampla gama de antibióticos. 45

Dióxido de Cloro (ClO2) Antimicrobiano O dióxido de cloro (ClO2) é um gás amarelo a amarelo avermelhado que pode se decompor rapidamente no ar. 48
O dióxido de cloro tem um peso molar de 67,452

Machine Tra

g/mol, e a solubilidade em água ao nível do mar é de 3,01 g/L (3000 ppm) a 25 °C e 34,5 mm Hg. 49,50,51
É um biocida eficaz em concentrações tão baixas quanto 0,1 ppm e em uma ampla faixa de pH. Mesmo em água fria, é dez vezes mais solúvel que o cloro. 52
O dióxido de cloro tem um potencial de oxidação menor que o ozônio e o cloro. O pH ideal está entre pH 6,0 e pH 10,0 e geralmente é mais eficaz contra microorganismos em pH acima de 8,0 do que o cloro. 53

Quando reage na água, forma íons de clorito, uma substância química muito reativa que pode matar bactérias e microorganismos em qualquer solução.
O dióxido de cloro mata rapidamente bactérias, vírus e *Giardia* e é eficaz contra *Cryptosporidium.* 52 O dióxido de cloro também melhora o sabor e o odor, destrói sulfetos e fenóis, controla algas e neutraliza íons de ferro e manganês. É um biocida eficaz em concentrações tão baixas quanto 0,1 ppm e em uma ampla faixa de pH.

Dióxido de Cloro, Biofilmes e Resistência

O dióxido de cloro é mais adequado para uso terapêutico, pois pode penetrar e eliminar o biofilme.
De acordo com Simpson e cols. (1993)54 o dióxido de cloro pode remover biofilmes rapidamente porque é altamente solúvel em água. Ao contrário do ozônio, não reage com os polissacarídeos extracelulares do biofilme. Dessa forma, o dióxido de cloro pode penetrar nos biofilmes rapidamente para atingir e matar os micróbios que vivem dentro do filme. A penetração de biofilmes para erradicar microrganismos é um verdadeiro desafio tanto para a medicina natural quanto para a alopática.
Biofilme é uma estrutura tridimensional formada por células microbianas que aderem a superfícies bióticas ou abióticas sob diversos fatores fisiológicos e ambientais que ainda precisam ser identificados. Além disso, essas células se multiplicam continuamente e produzem substâncias poliméricas extracelulares (EPS), formando uma matriz que envolve esses micróbios.
Os biofilmes são agregados de células microbianas envolvidas por matrizes de exopolissacarídeos autoproduzidas em superfícies bióticas ou abióticas. Os biofilmes demonstram proteção considerável contra antibióticos, defesa imunológica do hospedeiro e condições ambientais adversas do que células de vida livre. 55 Estima-se que 65 a 80% das infecções humanas sejam causadas por bactérias formadoras de biofilme. 56
Estima-se que os biofilmes sejam 1000 vezes mais resistentes a antibióticos do que as células de vida livre. 57 A interação entre células bacterianas e fatores ambientais desencadeia a formação de biofilme.
O dióxido de cloro pode penetrar e erradicar os biofilmes, uma vantagem significativa sobre muitos antibióticos que não conseguem fazer isso.
Outra vantagem muito significativa do uso terapêutico do dióxido de cloro sobre os antibióticos é que ele não pode criar resistência a antibióticos em bactérias. 58 A presença dos quatro aminoácidos (cisteína, metionina, tirosina e triptofano) e especialmente cisteína e tióis biológicos desempenham um papel crucial em todos os sistemas vivos, incluindo micróbios, de modo que nenhum micróbio pode desenvolver uma resistência contra o dióxido de cloro. 59

O dióxido de cloro penetra nas paredes das células bacterianas e reage com aminoácidos vitais no citoplasma da célula para matar o organismo. O subproduto dessa reação é o clorito, que não é conhecido por representar riscos significativos para o meio ambiente ou para a saúde humana.

Segurança e eficácia do dióxido de cloro

Em 1967, a US EPA registrou pela primeira vez a forma líquida de dióxido de cloro para uso como desinfetante e desinfetante. 49 O dióxido de cloro é um agente antimicrobiano seletivo de tamanho que pode matar organismos de tamanho micrométrico rapidamente, mas não pode prejudicar organismos muito maiores, como animais ou humanos, pois não pode penetrar profundamente em seus tecidos vivos. 59 O dióxido de cloro não pode penetrar profundamente nos tecidos de organismos maiores, e a circulação de organismos maiores fornece um suprimento constante de antioxidantes, oferecendo proteção contra os efeitos dos oxidantes de dióxido de cloro. 60 Outras pesquisas mostraram que o dióxido de cloro, um forte oxidante, pode inibir ou destruir microrganismos em concentrações que variam de 1 a 100 ppm, produzindo potente atividade antiviral, inativando > ou igual a 99,9% dos vírus em 15 segundos para sensibilização. 61,62,63,64

Georgiou (2021)65 demonstrou com sucesso a eficácia do dióxido de cloro contra MRSA in vitro, com inibição do crescimento de 99,99% -100% mesmo em pequenas concentrações.
A pesquisa em andamento na Innerlight Biological Research Foundation tem investigado o uso clínico de dióxido de cloro, incluindo esporos inespecíficos, bactérias e vírus, por muitos aplicações por mais de vinte e cinco anos. 66
Extensas aplicações clínicas de dióxido de cloro para vírus Epstein-Barr (EBV), citomegalovírus (CMV); vírus da hepatite A; B; HIV (vírus da AIDS) e outros estão sendo usados continuamente. 66 Em 14 de outubro de 2020, o parlamento da BOLÍVIA aprovou um projeto de lei (lei 1351)67 que permite o uso de dióxido de cloro como medicamento contra a COVID 19. O dióxido de cloro foi usado com sucesso em países como Bolívia, México, Peru, Brasil e Colômbia. Na Bolívia, foi aprovada a Lei nº 1351 de 2020 (Diário Oficial da Bolívia, 2020) que autorizou a preparação, comercialização, fornecimento e uso da solução de dióxido de cloro para prevenção e tratamento diante da pandemia de COVID 19.

Machine Tra

Mais recentemente, em 2021, um estudo de Insignares Carrione58 realizado para determinar a eficácia do dióxido de cloro oral no tratamento de
O COVID-19 mostrou que o dióxido de cloro é eficaz no tratamento do COVID-19.
O dióxido de cloro tem três átomos; os cientistas chamam essa ligação de íon "instável" ou "carregado negativamente". 69 Quando essa ligação de átomos se separa, ela cria um minúsculo pulso subatômico de energia. Esse pulso acontece quando o dióxido de cloro se espalha por patógenos no corpo. Ele ataca apenas micróbios "ácidos" e "anaeróbicos" (vírus, bactérias, fungos ou parasitas) no corpo e não prejudica o microbioma. Estas bactérias sobrevivem apenas sem

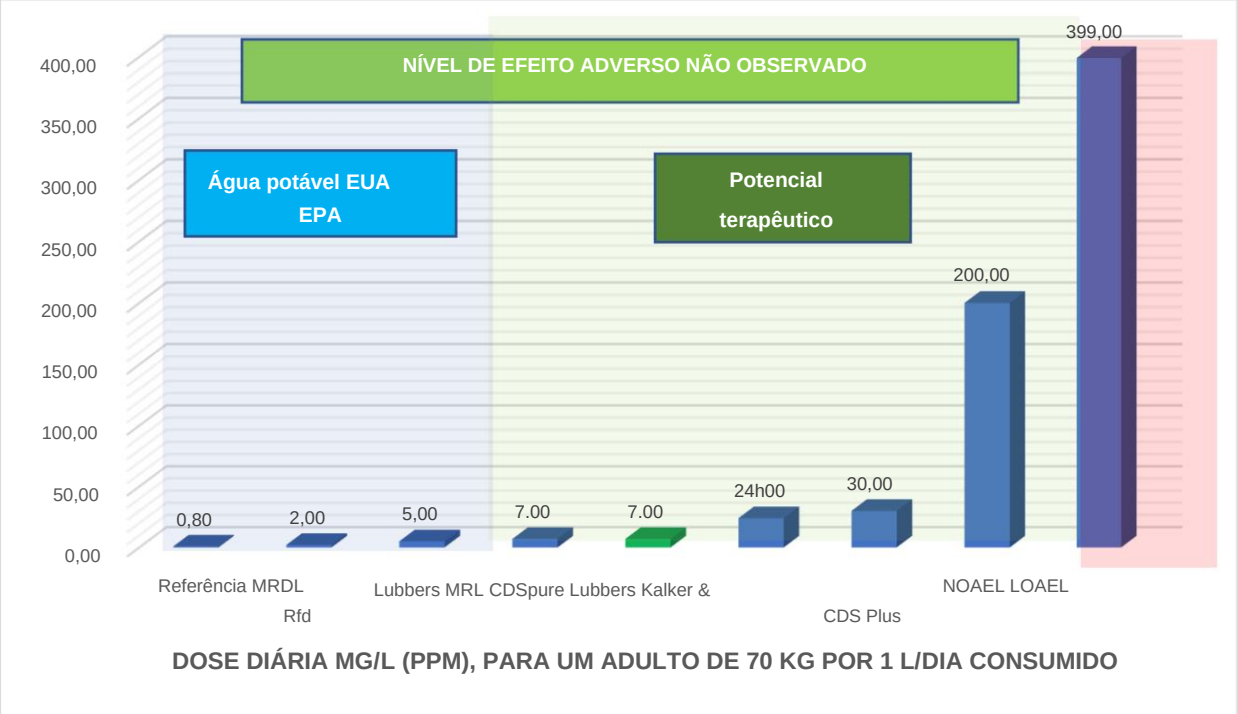
oxigênio e incluem muitos organismos patogênicos. 66

Organismos anaeróbicos não desenvolveram defesas adequadas contra o ataque de oxigênio, particularmente o oxigênio nascente, e sucumbem rapidamente à sua ação letal. Todas as células saudáveis que precisam de oxigênio para viver ou são "alcalinas" estão seguras. 69

Toxicologia do Dióxido de Cloro

A Figura 1 ilustra os níveis de referência para desinfecção de água potável da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (zona azul). Os níveis de
potencial eficácia terapêutica em animais de teste com toxicidade zero são mostrados na zona verde. Os níveis tóxicos são mostrados na zona vermelha (acima de 399 ppm). O nível de 5 ppm que erradicou 99% ou mais bactérias resistentes a antibióticos neste estudo está dentro da área azul/verde de toxicidade zero.

Figura 1. Dose de dióxido de cloro usada em estudos de dose repetida, subaguda (<28 dias) ou crônica (>90 dias)



O dióxido de cloro é adicionado à água potável para proteger as pessoas de bactérias nocivas e outras 49 A maioria das pessoas está exposta a microorganismos. pequenas quantidades de dióxido de cloro e clorito pela ingestão de água tratada, incluindo alimentos, uma vez que é utilizado como desinfetante na indústria alimentar.
Não há evidências de que o dióxido de cloro ou clorito afete a reprodução em humanos. Estudos reprodutivos em animais machos não demonstram consistentemente alterações nos índices espermatogênicos, morfologia anormal ou motilidade; no entanto, os efeitos relatados aparecem em doses mais altas do que os efeitos adversos no desenvolvimento. Da mesma forma, alterações nos parâmetros hematológicos ocorrem em doses mais altas. Nenhuma informação foi localizada sobre a morte em humanos após exposição oral ao dióxido de cloro. 49,69.

Em um estudo de Scatina,70 voluntários humanos beberam dióxido de cloro em uma solução de até 24 ppm e não apresentaram efeitos adversos.

Metodologia
Materiais e métodos

Este estudo utilizou cinco bactérias resistentes a antibióticos: *E coli, S aureus, K pneumoniae, S pneumoniae, A baumannii* e *P aeruginosa.*
Todos foram obtidos de um laboratório certificado (ATTC, Alemanha)71 em um frasco congelado e cultivado em placas de ágar sangue.
Uma amostra de cada bactéria foi retirada das culturas isoladas usando uma alça esterilizada em um laboratório de segurança.

Machine Translated by Google

Classe II das placas de cultura e colocadas em tubos estéreis com 5 ml de Tryptic Soy Broth (TSB).
Esses tubos de cultura foram incubados a 37 graus Celsius em uma incubadora Heraeus. Uma vez em uma contagem razoável, os tubos foram congelados e armazenados em nitrogênio líquido a -176 graus Celsius até o uso.

Contando Bactérias

Ao quantificar bactérias em laboratórios, é comum contar unidades formadoras de colônias, que é um método simples que dá uma boa ideia geral da viabilidade celular. Uma grande desvantagem é que leva dias para obter resultados, que podem diferir de técnico para técnico com base nas técnicas e condições de preparação de amostras.

Este estudo obteve contagens bacterianas usando o contador de células microbianas QUANTOM Tx™ da Logos Biosystems.72 É um contador de células automatizado baseado em imagem que pode identificar e contar contagens bacterianas individuais em minutos. O QUANTOM Tx focaliza, captura e analisa automaticamente várias imagens de células coradas com fluorescência para detectar células bacterianas com alta sensibilidade e precisão. Ele contém um sofisticado algoritmo de detecção e desagregação de células que pode detectar com precisão identifique células bacterianas individuais mesmo nos grupos mais compactos. Nesses experimentos, usamos o Viable Cell Staining Kit para detectar células vivas ou viáveis contra células mortas.

Para preparar a amostra para o contador QUANTOM, 10 microlitros (ÿl) do meio de cultura foram retirados com uma pipeta eletrônica DLAB previamente calibrada e colocados em um tubo Eppendorf esterilizado de 1,5 ml. A isso foi adicionado 2 ÿl de Viable Cell Staining Dye, que foi incubado em uma incubadora Heraeus a 37 graus centígrados por 30 minutos.
A esta amostra, adicionamos 8 ÿl de Buffer para aumentar o sinal fluorescente.

Preparando a solução de dióxido de cloro

Para preparar o dióxido de cloro, uma ampola de 5 ml de dióxido de cloro chamada CDS Pure® contendo exatamente 2.990 ppm de dióxido de cloro (CAS 10049-04-41) fabricado pela AQARIUS pro-life foi utilizado para os experimentos.
Esta é uma solução de dióxido de cloro esterilizada, pronta para uso, em uma ampola de vidro selada, altamente pura, nanofiltrada, com pH neutro e livre de cloro.
A solução de dióxido de cloro (água desmineralizada, dióxido de cloro) não contém resíduos, íons de prata ou nanopartículas.

Dado que cada ampola de 5 ml contém exatamente 2.900 ppm de dióxido de cloro, é fácil determinar quantos mililitros são necessários. As concentrações utilizadas variaram entre 1 – 7 ppm de dióxido de cloro. As quantidades usadas para cada = 1,667 concentração foi de 1 ppm = µl de CDS Pure®; 2 ppm 3,344 µl; 3 ppm = 5,016 µl; 4 ppm = 6,688 µl; 5 ppm = 8,336 µl; 6 ppm = 10,032 µl e 7 = 11,704 µl. O tempo de ppm exposição foi irrelevante pois a desinfecção foi imediata, em segundos.
A esses tubos foi adicionado dióxido de cloro em diferentes concentrações. A concentração de 5 ml de CDS de dióxido de cloro usada no experimento variou de 1,667 µl (1 ppm) a 11,704 µl (7 ppm), adicionada aos tubos com uma pipeta eletrônica DLAB e misturada suavemente para cada bactéria.

Um tubo controle também foi preparado a partir do mesmo meio de cultura para cada tubo experimental.
De acordo com a quantidade de dióxido de cloro aplicada no tubo experimental, a mesma quantidade de água destilada foi adicionada ao tubo controle para manter o fator de diluição constante.
A partir desses tubos de controle e experimentais, 6 ÿl da amostra foram retirados usando uma pipeta eletrônica e colocados nas lâminas de contagem de células M50. As lâminas foram colocadas na Centrífuga QUANTOM por 8 minutos a 300 RCF (Força Centrífuga Relativa) e depois colocadas no Contador de Células Microbianas QUANTOM para obter uma medida de linha de base (Controle) e outra medição do tubo Experimental.
As configurações ideais do QUANTOM Microbial Cell Counter para as diferentes bactérias foram definidas de acordo com a forma e o tamanho das várias bactérias para otimizar a contagem.

Resultados

Para avaliar o potencial de desinfecção do dióxido de cloro nos cinco tipos de bactérias resistentes a antibióticos neste estudo, ampolas de 5 ml de CDSpureÿ foram usados por toda parte, pois essas ampolas contêm uma concentração padronizada de 2.990 ppm. As concentrações foram de 1 ppm até 7 ppm, em incrementos de 1 ppm.
As amostras de controle e experimentais nas várias concentrações foram conduzidas em triplicata, para as quais uma média foi tomada para cada uma. Esses valores foram comparados com a amostra de controle sem o CDSpureÿ dióxido de cloro.
Geralmente, com todos os cinco estudos de bactérias, houve uma desinfecção superior a 95% na concentração máxima de 7 ppm de dióxido de cloro, com algumas espécies sendo erradicadas em concentrações mais baixas de 4 a 7 ppm (teste t, $p<0,01$).
Vamos examinar cada espécie de bactéria individualmente nas tabelas e figuras abaixo.

Desinfecção por Acinetobacter baumannii

Com *Acinetobacter baumannii,* houve uma desinfecção de 99% nas concentrações de 5, 6 e 7 ppm de dióxido de cloro (teste t, $p<0,01$) (Tabela 1, Figura 2).

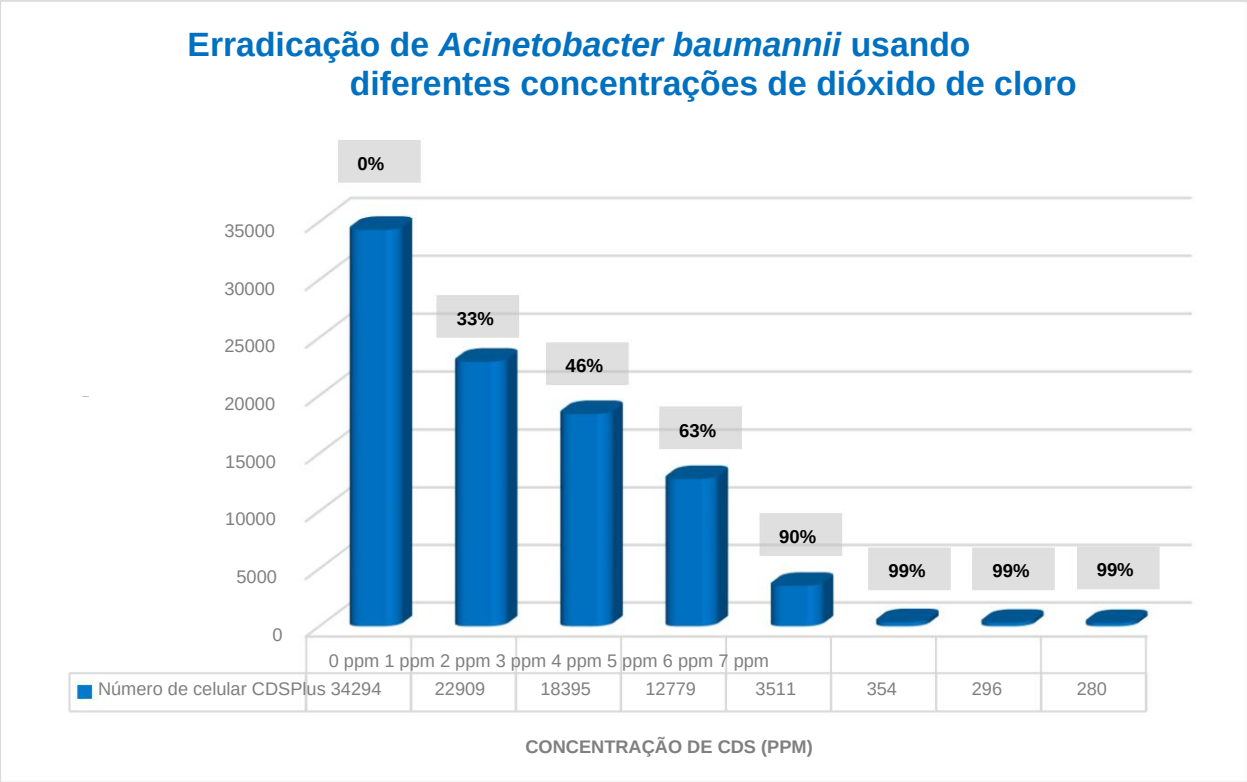
Machine Tra

Tabela 1: Comparação das contagens bacterianas de Acinetobacter baumannii antes e depois da exposição ao dióxido de cloro.

Concentração de CDS (ppm)	Concentração de CDS (µl)	Concentração celular (células por mL)		Tamanho (µm)		Número do celular		Diferença no número de celular	% de diferença no número de células
		C	E	ESSE		C	E		
0 ppm	0	1.19E+09	1.19E+09	1.1		1,1 34293	34293 0	1,1 34293	0
1 ppm	1,67	1.19E+09	7.95E+08	1.1		22909	11384	1,1 34293 18395	15898 33.20
2 ppm	3.34	1.19E+09	6.39E+08	1.1		1,1 34293	12779	21514 1,19E+09	46,36
3 ppm	5.02	1.19E+09	4.44E+08	1.1		1,22E+08	1,1 0,9	34293 3511	30782 62,74
4 ppm	6.69	1,19E+09	1,23E+07	1,1 0,8	34293 353	1,19E+09	1,03E+07	1,1 0,7	34293 295 89,76
5 ppm	8.36	1,19E+09	4,21E+07	1,1 0,7	34293 279				33940 98,97
6 ppm	10.03								33998 99,14
7 ppm	11.71								34014 99,19

C = Controle; E = Experimental

Figura 2. Comparação de controle vs. experimental de Acinetobacter baumannii coli usando dióxido de cloro em diferentes concentrações



Desinfecção por Escherichia coli

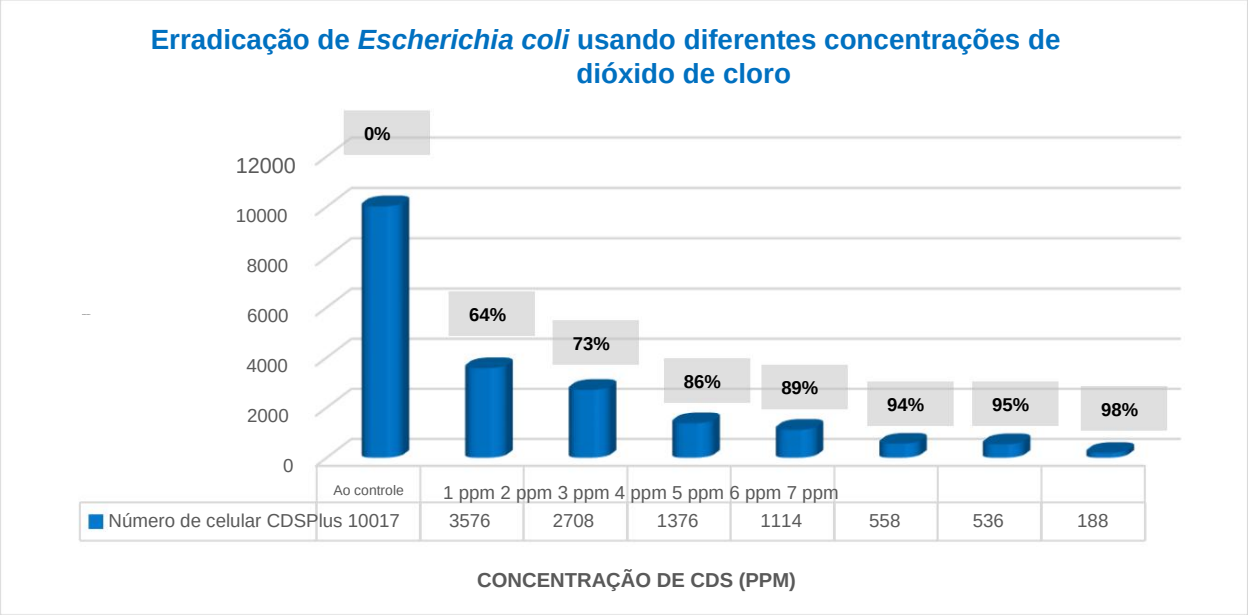
Com a E. coli, houve uma desinfecção > 98% a uma concentração de cloro de 7 ppm (teste t, p<0,01) (Tabela 2, Figura 3).

Tabela 2: Comparação das contagens bacterianas de Escherichia coli antes e depois da exposição ao dióxido de cloro.

Concentração de CDS (ppm)	Concentração de CDS (µl)	Concentração celular (células por mL)		Tamanho (µm)		Número do celular		Diferença no número de celular	% diferença no número do celular
		C	E	C	E	C	E		
0 ppm	0	4.16E+00 4.16E+00 1.8 1.8 10017 10017 0 4.16E+00 8.09E+07 1.8 1.8							0
1 ppm	1,67	10017 3576 6441 4.16E+00 6.16E+07 1.8 1.9 10017 2708 73 09 4.16E+00							64,30
2 ppm	3.34	3.18E+07 1.8 1.9 10017 1376 8641 4.16E+00 2.16E+07 1.8 1.9 10017 1114							72,96
3 ppm	5.02	8903							86,27
4 ppm	6.69								88,88
5 ppm	8.36	4.16E+00 1.14E+07 1.8 1.9 10017 558						9459	94,43
6 ppm	10.03	4,16E+00 3,82E+06 1,8 1,9 10017 536		4,16E+00 2,87E+05 1,8				9481	94,65
7 ppm	11.71	1,8 10017 188						9829	98.12

C = Controle; E = Experimental

Figura 3. Comparação de controle vs. experimental de Escherichia coli usando dióxido de cloro em diferentes concentrações



Desinfecção por Klebsiella pneumoniae

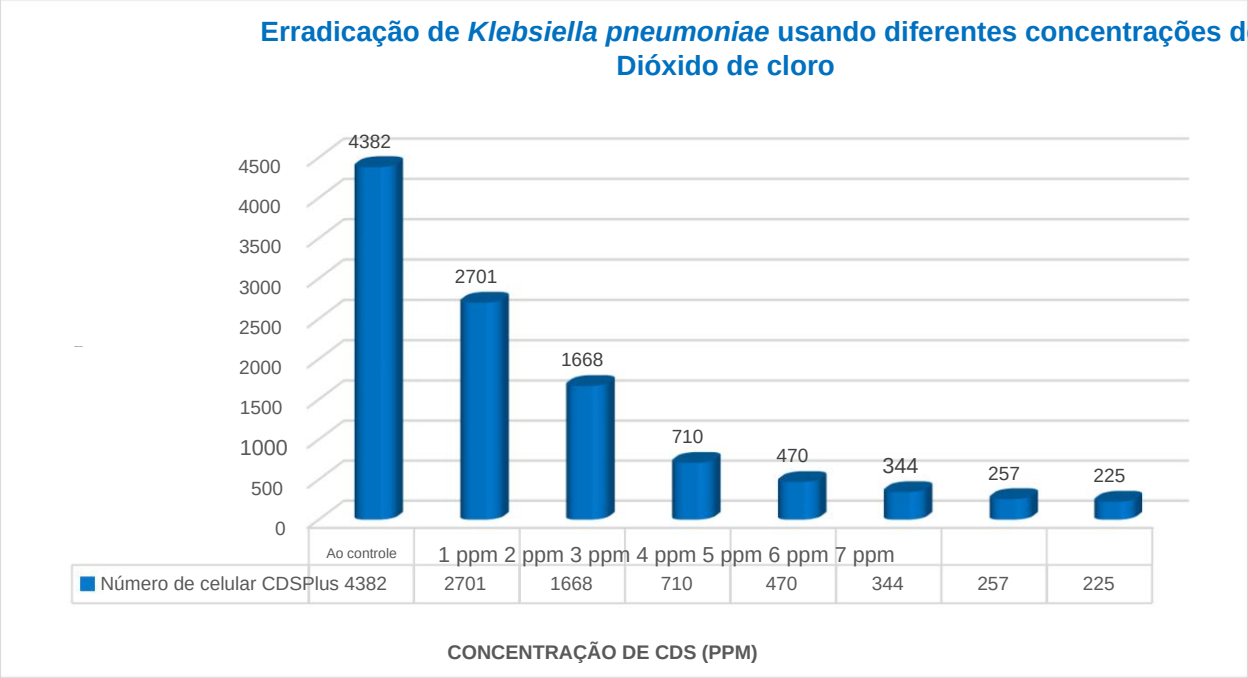
Com a bactéria K. pneumoniae, houve uma desinfecção > 94% na concentração de cloro de 6 e 7 ppm (teste t, p<0,01) (Tabela 3, Figura 4).

Tabela 3: Comparação das contagens bacterianas de Klebsiella pneumoniae antes e depois da exposição ao dióxido de cloro.

Concentração de CDS (ppm)	Concentração de CDS (µl)	Célula concentração (células por mL)		Tamanho (µm)		Número do celular		Diferença no número de celular	% de diferença no número de células
		C	E	ESSE		C	E		
0 ppm	0	1.03E+08	1.03E+08 1.1		1.1 4382 4382 0				0
1 ppm	1,67	1.03E+08 6.25E+07 1.1			1.1 4382 2701 1681				38.36
2 ppm	3.34	1,03E+08 3,86E+07 1,1			1.2 4382 1668 2714				61,94
3 ppm	5.02	1.03E+08	1.64E+07 1.1		1.2 4382 710 3672				83,80
4 ppm	6.69	1.03E+08	1.06E+07 1.1		1.1 4382 470 3912				89,27
5 ppm	8.36	1.03E+08 6.72E+06 1.1 0.9 4382 344 4038							92,15
6 ppm	10.03	1,03E+08 5,97E+06 1,1 0,8 4382 257 4125							94,14
7 ppm	11.71	1,03E+08 3,82E+06 1,1 0,8 4382 225 4157							94,87

C = Controle; E = Experimental

Figura 4. Comparação do Controle vs. Experimental de Klebsiella pneumoniae Utilizando Dióxido de Cloro em Diferentes Concentrações



Desinfecção por Staphylococcus Aureus Resistente à Meticilina (MRSA)

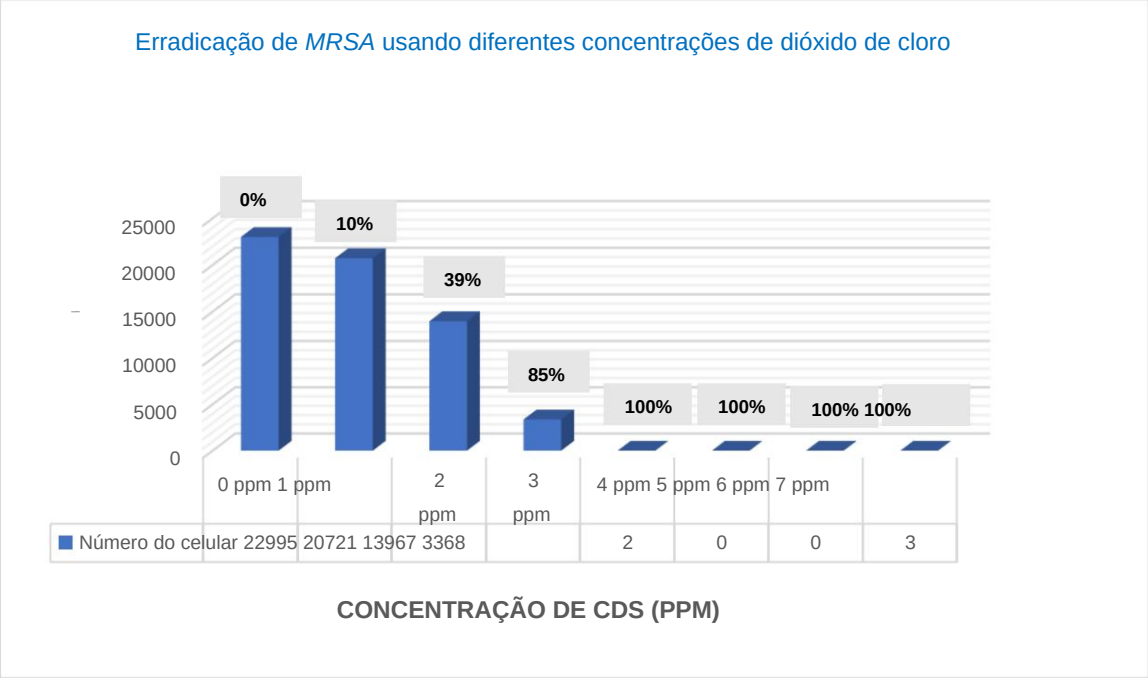
Com o MRSA, houve uma desinfecção > 99% em uma concentração de cloro de 4 - 7 ppm (teste t, p<0,01) (Tabela 4, Figura 5).

Tabela 4: Comparação das contagens bacterianas de MRSA antes e depois da exposição ao dióxido de cloro

Concentração de CDS (ppm)	Concentração de CDS (µl)	Concentração celular (células por mL)		Tamanho (µm)		Número do celular		Diferença no número de celular	% diferença no número do celular
		C	E	C	E	C	E		
0 ppm	0	5,32E+08	5,32E+08	2,6	2,6	22995	22995	0	
1 ppm	1,67	5,32E+08	4,80E+08	2,6	2,1	22995	20721	2274	
2 ppm	3.34	5,32E+08	3,24E+08	2,6	1,6	22995	13967	9028	
3 ppm	5.02	5,32E+08	7,80E+07	2,6	1,1	22995	3368	19627	
4 ppm	6.69	5,32E+08	3,47E+04	2,6	0,8	22995	2		
5 ppm	8.36	5,32E+08	0,00E+00	2,6	0,0	22995	0		
6 ppm	10.03	5,32E+08	0,00E+00	2,6	0,0	22995	0		
7 ppm	11.71	5,32E+08	6,95E+04	2,6	1,1	22995	3		

C = Controle; E = Experimental

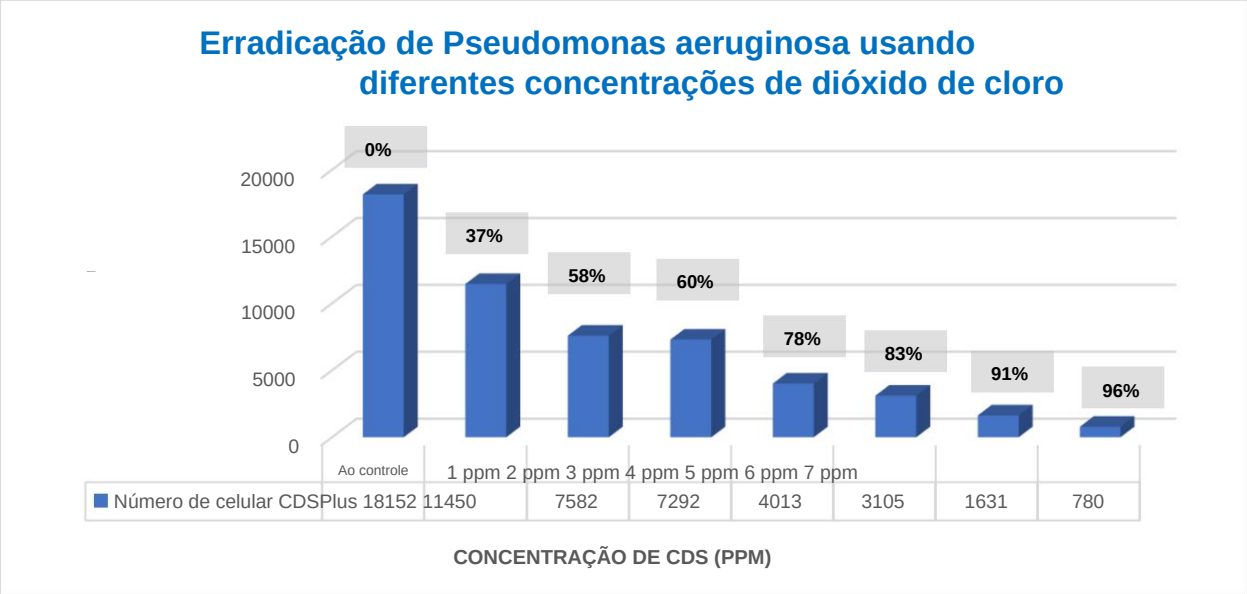
Figura 5. Comparação de controle vs. experimental de MRSA usando dióxido de cloro em diferentes concentrações



Desinfecção por Pseudomonas aeruginosa

Com a bactéria P. aeruginosa, houve uma desinfecção >95% a uma concentração de cloro de 7 ppm (teste t, p<0,01) (Tabela 5, Figura 6). Esta pesquisa indica que a solução de dióxido de cloro é uma substância natural eficaz que pode erradicar todos os as espécies de bactérias resistentes a antibióticos testadas. As concentrações de dióxido de cloro necessárias para atingir 95% ou mais de desinfecção para as cinco bactérias resistentes a antibióticos são de 4 a 7 ppm, que estão dentro dos limites potencialmente seguros a (consulte a Figura 1).

Figura 6. Comparação do Controle vs. Experimental de Pseudomonas aeruginosa Usando Dióxido de Cloro em Diferentes Concentrações



Machine Tra

Tabela 5: Comparação das contagens bacterianas de Pseudomonas aeruginosa antes e depois da exposição ao dióxido de cloro.

Concentração de CDS (ppm)	Concentração de CDS (µl)	Concentração celular (células por mL)		Tamanho (µm)		Número do celular		Diferença no número de celular	% diferença no número do celular
		C	E	C	E	C	E		
0 ppm	0	4,26E+08	4,26E+08	2,5	2,5	18152	18152	0	
1 ppm	1,67	4,26E+08	2,66E+08	2,5	2,5	18152	11450	6702	36,92
2 ppm	3.34	4,26E+08	1,76E+08	2,5	2,6	18152	7582	10570	58.23
3 ppm	5.02	4,26E+08	1,60E+08	2,5	2,5	18152	7292	10860	59,83
4 ppm	6.69	4,26E+08	8,67E+07	2,5	2,5	18152	4013	14139	77,89
5 ppm	8.36	4,26E+08	5,28E+07	2,5	2,3	18152	3105	15047	82,89
6 ppm	10.03	4,26E+08	3,68E+07	2,5	2,2	18152	1631	16521	91.01
7 ppm	11.71	4,26E+08	1,80E+07	2,5	2,4	18152	780	17372	95,70

C = Controle; E = Experimental

Discussão

O aumento de bactérias resistentes a antibióticos representa uma ameaça significativa para a saúde pública em todo o mundo. Essas bactérias resilientes desenvolveram resistência convencionais a antibióticos, tornando as infecções cada vez mais difíceis de tratar e levando a uma aumento das taxas de mortalidade e aumento dos custos de saúde. Prevê-se que o número de mortes anuais relatadas ultrapasse 10 milhões até 2050 devido a doenças resistentes a antibióticos, superando as mortes por câncer.1,2,3,4 Isso representa uma grave ameaça à saúde global, já que infecções antes gerenciadas rapidamente podem agora resultar em doenças prolongadas , gerando muito sofrimento e sobrecarga para o sistema de saúde.

O impacto da pesquisa em abordagens alternativas para erradicar bactérias resistentes a antibióticos não pode ser subestimado. Esta pesquisa pode salvar vidas em escala global através do seguinte:

1. Melhores resultados para os pacientes: Estratégias alternativas podem efetivamente tratar infecções antes consideradas intratáveis. Ao direcionar com sucesso bactérias resistentes a antibióticos, essas abordagens podem melhorar os resultados dos pacientes, reduzir as taxas de morbidade e mortalidade e restaurar a esperança de indivíduos afetados por infecções resistentes.
2. Carga de saúde reduzida: A carga crescente de infecções resistentes a antibióticos sobrecarrega os sistemas de saúde em todo o mundo. Ao encontrar formas alternativas de combater a resistência, a carga sobre os recursos de saúde pode ser aliviada, resultando em maior eficiência, redução de internações hospitalares e diminuição dos custos de saúde.
3. Prevenção de epidemias: Se não forem controladas, as bactérias resistentes podem causar epidemias generalizadas. A pesquisa sobre abordagens alternativas oferece a oportunidade de prevenir o surgimento e a disseminação de cepas resistentes, protegendo a saúde pública e evitando surtos em larga escala.
4. Diversificação de opções de tratamento: tratamentos novos e naturais fornecem alternativas abordagens para combater a resistência aos antibióticos. Eles expandem a gama de opções de tratamento disponíveis para os profissionais de saúde, garantindo que eles tenham várias ferramentas para combater infecções resistentes. Essa diversificação aumenta as chances de resultados de tratamento bem-sucedidos e ajuda a enfrentar as limitações dos antibióticos convencionais.
5. Superando Mecanismos de Resistência: As bactérias antibióticas ter desenvolveram mecanismos sofisticados de resistência para escapar dos efeitos dos antibióticos tradicionais. Tratamentos novos e naturais oferecem o potencial de atingir as bactérias por diferentes caminhos, contornando ou superando os mecanismos de resistência existentes, fornecendo uma nova abordagem para combater cepas resistentes e reduzindo a probabilidade de falha no tratamento.
6. Efeitos colaterais e toxicidade reduzidos: muitos antibióticos convencionais têm efeitos colaterais associados e podem ser tóxicos para o corpo, principalmente quando usados por períodos prolongados. Os tratamentos naturais, como o dióxido de cloro, podem oferecer perfis de toxicidade mais baixos e efeitos colaterais reduzidos. Isso é particularmente vantajoso para populações vulneráveis, como crianças, gestantes e idosos, que podem ser mais suscetíveis aos efeitos adversos dos antibióticos convencionais.
7. Preservação da Microbiota Intestinal:9 Os antibióticos convencionais muitas vezes perturbam o equilíbrio das bactérias benéficas no intestino, levando à disbiose e potenciais consequências para a saúde a longo prazo. Tratamentos novos e naturais podem oferecer abordagens direcionadas que eliminam seletivamente as bactérias nocivas, preservando a diversidade e a função da microbiota intestinal. Essa preservação é crucial, pois um microbioma intestinal saudável desempenha um papel vital na função imunológica, na digestão e no bem-estar geral.

Machine Tra

8. Soluções sustentáveis e ecológicas: A produção e o uso de antibióticos convencionais podem ter efeitos ambientais adversos, incluindo o desenvolvimento de cepas resistentes a antibióticos no meio ambiente.

   Os tratamentos naturais geralmente vêm de fontes renováveis, como plantas ou compostos derivados de micróbios, que podem ser produzidos de forma sustentável. Além disso, esses tratamentos podem ter um impacto ambiental mínimo, pois geralmente se decompõem mais facilmente, reduzindo o risco de danos ecológicos a longo prazo.
9. Potencial para terapias combinadas: Os tratamentos naturais podem ser combinados com antibióticos convencionais ou outras terapias alternativas para criar efeitos sinérgicos e melhorar os resultados do tratamento. Esta abordagem permite regimes de tratamento personalizados e adaptados, otimizando os potenciais benefícios de cada modalidade de tratamento. As terapias combinadas podem ser mais eficazes no combate a bactérias resistentes, reduzindo o tempo de tratamento e evitando o desenvolvimento de resistência.
10. Opções de tratamento acessíveis e acessíveis: O acesso a antibióticos convencionais pode ser limitado ou ter custos proibitivos em muitas partes do mundo. Tratamentos naturais derivados de recursos disponíveis localmente podem oferecer opções mais acessíveis e acessíveis para o tratamento de infecções resistentes. Isso pode impactar significativamente a saúde global, especialmente em ambientes com recursos limitados, onde o ônus da resistência a antibióticos é alto.

Na busca por alternativas eficazes, o dióxido de cloro surgiu como uma solução promissora para a erradicação de bactérias resistentes a antibióticos. Funciona interrompendo as estruturas celulares das bactérias, impedindo-as de se multiplicar e causar mais danos.

Vantagens do Dióxido de Cloro

O dióxido de cloro surgiu como uma arma promissora na luta contra esses patógenos resilientes. Sua atividade de amplo espectro, eficácia residual, probabilidade reduzida de resistência e segurança ambiental o tornam uma ferramenta inestimável na erradicação de bactérias resistentes a antibióticos. Ao adotar o dióxido de cloro como parte de estratégias abrangentes de controle de infecções, podemos reduzir significativamente as taxas de mortalidade associadas a essas infecções, proteger a saúde pública e abordar o problema crescente da resistência a antibióticos.

Existem muitas vantagens em usar dióxido de cloro no tratamento de microorganismos resistentes a antibióticos, tais como:

Atividade de espectro: O dióxido de cloro demonstrou eficácia contra muitas bactérias, incluindo MRSA e outras cepas resistentes a antibióticos. Sua capacidade de atingir a parede celular bacteriana e interromper os processos metabólicos essenciais o diferencia como um agente antimicrobiano eficaz.

Eficácia residual: desinfetantes tradicionais, o dióxido de cloro apresenta um efeito residual, que protege as superfícies mesmo após a aplicação inicial. Essa atividade residual é crucial em ambientes de saúde, onde as superfícies podem se tornar contaminados rapidamente, proporcionando uma defesa tenaz contra a colonização e transmissão bacteriana.

Probabilidade reduzida de desenvolvimento de resistência: O mecanismo de ação do dióxido de cloro reduz a probabilidade de bactérias desenvolverem resistência. Ao contrário dos antibióticos tradicionais que visam componentes bacterianos específicos, o dióxido de cloro ataca várias estruturas celulares simultaneamente, tornando mais difícil para as bactérias desenvolverem mecanismos de resistência.

Erradicação de Biofilmes: Estudos de pesquisa mostraram que o dióxido de cloro penetra e elimina biofilmes. Estima-se que os biofilmes sejam 1000 vezes mais resistentes a antibióticos do que as células de vida livre.57

Segurança Ambiental: O dióxido de cloro é reconhecido por seu perfil ecológico favorável. Ele se decompõe em subprodutos inofensivos, sem deixar resíduos tóxicos. Essa característica garante que seu uso para fins de desinfecção não contribua para danos ambientais a longo prazo.

O impacto potencial: A importância do dióxido de cloro na erradicação de bactérias resistentes a antibióticos não pode ser exagerada. Ao fornecer uma opção alternativa de tratamento, o dióxido de cloro pode ajudar a combater o problema crescente de resistência a antibióticos, reduzir as taxas de mortalidade e aliviar a carga sobre os sistemas de saúde. Sua eficácia contra MRSA e outras cepas resistentes pode melhorar os resultados dos pacientes, reduzir o tempo de internação e reduzir os custos de saúde.

Custo-benefício: A solução de dióxido de cloro é barata e pode reduzir significativamente os custos de saúde de um país ao longo do tempo.

Conclusões

Esta pesquisa se concentrou no estudo da eficácia do dióxido de cloro in vitro para algumas das bactérias resistentes a antibióticos mais críticas, causando milhões de mortes anualmente em todo o mundo.

Mostramos que a concentração ideal de dióxido de cloro que resulta em desinfecção quase completa in vitro é de 7 ppm ($p<0,01$). Esta é uma dosagem segura para tomar, pois é sobre a dosagem usada para tratamentos de água.

O que foi observado in vitro muito provavelmente será visto no corpo humano. Como o sangue, o dióxido de cloro libera oxigênio quando encontra acidez, seja do ácido lático ou da acidez do microrganismo.58 Quando o dióxido de cloro se dissocia, ele

Machine Tra

libera oxigênio no sangue, assim como os eritrócitos (glóbulos vermelhos), através do mesmo princípio (conhecido como Efeito Bohr), que é ser seletivo para a acidez.

O dióxido de cloro é um agente antimicrobiano seletivo de tamanho que pode matar organismos do tamanho de um mícron rapidamente, mas não pode causar danos reais a organismos muito maiores, como animais ou humanos, pois não pode penetrar profundamente em seus tecidos vivos.73 Tem havido muita controvérsia em torno do uso de dióxido de cloro. No entanto, deve-se ter em mente que, como acontece com qualquer medicamento ou suplemento, os efeitos da exposição a qualquer substância dependem da via de administração (por exemplo, inalatória, tópica ou oral), do estado da molécula (ou seja, gasosa, ou aquosa), concentração da dose, duração da exposição,
características e hábitos pessoais e se outros produtos químicos ou impurezas estão presentes.
Enfatizando que muitos estudos toxicológicos foram realizados ao longo dos anos com dióxido de cloro em humanos e animais, mostrando sua segurança e eficácia, pois tem sido usado em muitas aplicações para garantir que os humanos sejam expostos a níveis seguros.

Quando usado adequadamente nas baixas doses necessárias para neutralizar o dióxido de cloro dos micróbios, provou ser seguro. Houve resultados positivos em ensaios clínicos recentes com dióxido de cloro realizados para COVID-19 pela Insignares-Carrione em 202158, onde dióxido de cloro CDS ultrapuro (2.990 ppm) foi administrado por via intravenosa a pacientes.

Além disso, as aprovações governamentais de soluções de dióxido de cloro para a prevenção e tratamento da pandemia de COVID-19 na Bolívia se tornaram lei em 2020.75 Pela qual um comitê de ética foi legalmente constituído e endossado pelo Ministério da Saúde boliviano, que, por meio de e comitês de pesquisa ética, está conduzindo sua pesquisa sobre o dióxido de cloro para uso em diferentes aplicações.

Além disso, extensas aplicações clínicas de dióxido de cloro para vírus Epstein-Barr (EBV), citomegalovírus (CMV); vírus da hepatite A; B; HIV (vírus da AIDS) e outros estão sendo usados continuamente. Pesquisas adicionais têm investigado o uso clínico do dióxido de cloro, incluindo esporos inespecíficos, bactérias e vírus ao longo dos anos.66

Existem centenas de outros testemunhos do uso de dióxido de cloro por voluntários que foram coletados ao longo dos anos por Jim Humble para várias aplicações de dióxido de cloro.76

Ensaios clínicos precisam ser conduzidos para ganhar experiência clínica no que funcionaria melhor na prática clínica. Os médicos que usam infusões IV podem usar as ampolas de 5 ml CDSpureÿ (2.990 ppm) diretamente ou por via oral quando diluídas nos níveis necessários.

Conflito de Interesses: Nenhum

Demonstrativo de Financiamento: Nenhum

Referências

1. Grupo do Banco Mundial. *Infecções resistentes a medicamentos: uma ameaça ao nosso futuro econômico.* Washington: Banco Internacional para Reconstrução e Desenvolvimento/Banco Mundial. 2017. Recuperado de https://documents1.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/pdf/relatório final.pdf
2. Nações Unidas. *Metas de desenvolvimento sustentável.* (acesso 2023). Retirado das Nações Unidas: https://www.un.org/sustainabledevelopment/metas de desenvolvimento sustentável/
3. Sharma P, & Towse A. *Novos medicamentos para combater a resistência antimicrobiana: análise das opções de política da UE. (2015, 25 de agosto).* Recuperado do SSRN: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=2640028
4. Colaboradores da Resistência Antimicrobiana. Carga global de resistência antimicrobiana bacteriana em 2019. *Lancet. 2022;399,* 629-655.
5. Gatadi S, Gour J, & Nandu S. Produtos naturais derivados de medicamentos anti-MRSA promissores: uma revisão. *Química Bioorgânica e Medicinal. 2019;27(17),* 3760-3774.
6. Sharma P, & Towse A. *Novas Drogas para Combater a Resistência Antimicrobiana: Análise das Opções Políticas da UE.* 2015, 25 de agosto. Recuperado do SSRN: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=2640028
7. Ventola CL. A crise de resistência aos antibióticos: parte 1: causas e ameaças. *Farmácia e Terapêutica. 2015;40(4),* 277–283.
8. Lobanovska M, & Pilla G. Descoberta da Penicilina e Resistência a Antibióticos: Lições para o Futuro? *Yale Journal of Biology and Medicine. 2017;90(1),* 135–145.
9. Langdon A, Crook N, & Dantas G. Os efeitos dos antibióticos no microbioma ao longo do desenvolvimento e abordagens alternativas para modulação terapêutica. *Medicina do Genoma, 2016;8,* 39.

Machine Tra

10. Colaboradores de doenças e lesões do GBD 2019. Carga global de 369 doenças e lesões em 204 países e territórios, 1990-2019: uma análise sistemática para o Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet.* 2020;17(396(10258):), 1204–1222.
11. Kramer, A., Schwebke, I., & Kampf, G. Por quanto tempo os patógenos nosocomiais persistem em superfícies inanimadas? Uma revisão sistemática. *MC Doenças Infecciosas.* 2006;16(6), 130.
12. Khin M, Knowles SL, Crandall WJ, Jones Jr, DD, Oberlies NH, Cech NB., & Houriet J. Capturando o perfil antimicrobiano de Rosmarinus officinalis contra Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA) com fracionamento guiado por bioensaio e bioinformática. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis,* 2021;197, 113965.
13. Bodeker G, Ong CK, Grundy CK, Burford G e Shein K. *Atlas global da OMS de medicina tradicional, complementar e alternativa.* Kobe, Japão: Organização Mundial da Saúde. 2005.
14. Bshabshe AA, Joseph MR, Awad El-Gied AA, Fadul AN, Chandramoorthy HC e Hamid ME. Relevância clínica e perfil antimicrobiano de Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA) em antibióticos de rotina e extrato de etanol de caroço de manga (Mangifera indica L.). *Biomed Research International,* 2020, 4150678.

[PMC free article] [PubMed] 15. Zouhir A, Jridi T, Nefz A, Hamida JB, Sebei K, Nefzi A, Hamida JB, Sebei K. Inibição de Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA) por peptídeos antimicrobianos (AMPs) e óleos essenciais de plantas. *Biologia Farmacêutica.* Volume 54, 2016; Edição 12. https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1190763
16. CDSpureÿ https://aquarius prolife.com/en/maltesian-mineral solution/104-cdspure-6x5ml-ampoules
17. Agência de Proteção Ambiental dos EUA. *Decisão de elegibilidade de recadastramento (RED) para dióxido de cloro e clorito de sódio (Processo 4023).* Agência de Proteção Ambiental dos EUA, Escritório de Prevenção, Pesticidas e Substâncias Tóxicas. Washington: Relatório Técnico No. EPA/738/R-06/007. 2006, agosto. Retirado da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos: https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/red_PC020503_3-Aug-06.pdf
18. Clordis. *EQUIPAMENTOS E SERVIÇOS DE DESCONTAMINAÇÃO E ESTERILIZAÇÃO.* 2014. Obtido de clordisys: https://www.clordisys.com/
19. Jin RY, Hu SQ e Chi ZC. Efeito do tratamento com gás dióxido de cloro na esterilização da superfície da uva. *Pesquisa de Materiais Avançados.* 2011;236, 2939–2944.
20. Park SH, & Kang DH. Tratamento combinado de gás dióxido de cloro e desinfetante em aerossol para inativar patógenos transmitidos por alimentos em folhas de espinafre e tomates. *Jornal Internacional de Microbiologia Alimentar.* 2015;207, 103–108.
21. Kalay TS, Kara Y, Karaoglu SA, & Kolaylÿ S. Avaliação do dióxido de cloro estabilizado em termos de atividade antimicrobiana e resistência de união à dentina. *Química Combinatória e Triagem de Alto Rendimento.* 2022;25(9), 1427 - 1436.
[PubMed] 22. Peleg AY, Seifert H, & Paterson DL. Acinetobacter baumannii: emergência de um patógeno de sucesso. *Revisões de Microbiologia Clínica.* 2008;21, 538–582.
23. Lin MF, & Lan CY. (2014). Resistência antimicrobiana em Acinetobacter baumannii: da bancada à beira do leito. *Jornal Mundial de Casos Clínicos.* 2014;2, 787–814.
24. De Oliveira DM, Forde BM, Kidd TJ, Harris PN, Schembri MA, Beatson SA, Walker MJ. Resistência antimicrobiana no patógeno ESKAPE. *Revisão de Microbiologia Clínica,* 33(3), e00181-19. Diekema PR, Mendes DJ, Hsueh R. E., Pfaller , MA, Rolston HS, & Sader RN (2019). A microbiologia da infecção da corrente sanguínea: tendências de 20 anos do SENTRY Antimicrobial Surveillance *Antimicrobial Agents and* Program. *Chemotherapy,* 2020;63(7), e00355-19.
25. Diekema DJ, Hsueh PR, Mendes RE, Pfaller MA, Rolston KV, Sader HS e Jones RN. A microbiologia da infecção da corrente sanguínea: 20-tendências anuais do Programa de Vigilância Antimicrobiana SENTRY. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 2019;63(7), e00355-19.
26. Thom KA, Maragakis LL, Richards K, Johnson JK, Roup B, Lawson P. Maryland MDRO Prevention Collaborative. Avaliando a carga de Acinetobacter baumannii em Maryland: uma pesquisa de prevalência de período transversal em todo o estado. *Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar,* 2012;33(9), 883-888.
27. Quinn B, Rodman N, Jara E, Fernandez JS, Martinez J, Traglia GM. Ramirez MS. A albumina sérica humana altera genes específicos que podem desempenhar um papel na sobrevivência e persistência em Acinetobacter baumannii. *Relatórios Científicos.* 2018; 8, 14741.
28. Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, Lee SH. Biologia de Acinetobacter baumannii: Patogênese, mecanismos de resistência a antibióticos e tratamento prospectivo

Machine Tra

opções. *Fronteiras em Microbiologia Celular e Infecciosa.* 2017;7, 55.

29. McConnell MJ, Actis L, & Pachón J. Acinetobacter baumannii: infecções humanas, fatores que contribuem para a patogênese e modelos animais. *FEMS Microbiology Reviews,* 2013;37(2), 130–155.

30. Organização Mundial da Saúde. *A OMS publica uma lista de bactérias para as quais novos antibióticos são urgentemente necessários.* 2017, 27 de fevereiro. Retirado da Organização Mundial da Saúde: https://www.who.int/news/item/27-02-2017-quem-publica-lista-de-bactérias-para-as-que-necessitam-de-novos-antibióticos-com-urgência

31. Rangel K, Chagas TP, & De-Simone SG. Infecções por Acinetobacter baumannii em tempos de pandemia de COVID-19. *Patógenos,* 2021;10(8), 1006.

32. Alhashash F, Weston V e Diggle M. Bacteremia por Escherichia coli multirresistente. *Doenças Infecciosas Emergentes,* 2013;19(10), 1699–1701.

[PubMed] 33. Kaper JB, Nataro JP, & Mobley HL. Escherichia coli patogênica. *Nature Reviews Microbiology.* 2004;2, 123-140.

34. Santos Braz V, Melchior K, & Moreira CG. Escherichia coli como uma bactéria patogênica multifacetada e versátil. *Fronteiras em Microbiologia Celular e Infecciosa.* 2020;10, 548492.

35. Aryal S. *E. Coli (Escherichia Coli) - Uma visão geral.* 2020; 23 de dezembro. Retirado das notas de micróbios: https://microbenotes.com/escherichia-coli-e coli/#habitat-of-e-coli

36. Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L e Wang H. A característica de virulência, biofilme e resistência a antibióticos de Klebsiella pneumoniae. *Jornal Internacional de Pesquisa Ambiental e Saúde Pública.* 2020;17(17), 1-17.

37. Chew KL, Lin RT e Teo JW. Klebsiella Pneumoniae em Cingapura: Infecções Hipervirulentas e a Ameaça Carbapenemase. *Fronteiras em Microbiologia Celular e Infecciosa.* 2017;7, 515.

38. Russo TA, & Marr CM. Klebsiella Pneumoniae Hipervirulenta. *Revisões de Microbiologia Clínica. 2019;32(3),* 1–4.

39. Ashurst JV, & Dawson A. *Klebsiella Pneumonia.* Treasure Island: StatPearls Publishing, 2022.

40. Jaradat ZW, Ababneh QO, Sha'aban ST, Alkofahi AA, Assaleh D, & Al Shara A. Staphylococcus aureus resistente à meticilina e fômites públicos: uma revisão. *Patógenos e Saúde Global.* 2020;114(8), 426–450.

41. Siddiqui AH. & Koirala J. *Staphylococcus Aureus resistente à meticilina.* 2022. Recuperado de StatPearls: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482221/

42. Belleza M. *Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA).* 2021. Recuperado de Nurseslabs: https://nurseslabs.com/methicillin resistente-staphylococcus-aureus-mrsa/

43. Alhazmi A. Pseudomonas aeruginosa – Patogênese e Mecanismos Patogênicos. *Revista Internacional de Biologia. 2015;7(2),* 44-67.

44. Wood SJ, Kuzel TM e Shafikhani SH. Pseudomonas aeruginosa: Infecções, Modelagem Animal e Terapêutica. *Células. 2023;12(1),* 199.

45. Moradali MF, Ghods S, & Rehm BH. Estilo de vida de Pseudomonas aeruginosa: um paradigma para adaptação, sobrevivência e persistência. *Fronteiras em Microbiologia Celular e Infecciosa.* 2017;7, 39.

46. Gale MJ, Maritato MS, Chen Y, & Abdulateef S. Pseudomonas aeruginosa causando massa inflamatória da nasofaringe em um paciente imunocomprometido infectado pelo HIV: uma imitação de malignidade. 2015;2, 40-43.

47. Gomila A, Carratalà J, Badia JM, Camprubí D, Piriz M, Shaw E, Biondo S. A profilaxia antibiótica oral pré-operatória reduz infecções de sítio cirúrgico por Pseudomonas aeruginosa após cirurgia colorretal eletiva. *BMC Infectious Diseases,* 2018;18, 507.

48. Agência para Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças. *Perfil toxicológico para dióxido de cloro e clorito.* 2004. Retirado da Agência para Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças: https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp160.pdf

49. Agência para Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças. *ToxFAQs™ para dióxido de cloro e clorito.* 2004, setembro. Recuperado da Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tfacts160.pdf :

50. Organização Mundial da Saúde. *Dióxido de Cloro, Clorito e Clorato em Água Potável: Documento de base para o desenvolvimento das Diretrizes da OMS para a Qualidade da Água Potável.* 2016. Genebra: Organização Mundial da Saúde.

51. Bajpai P. O controle de problemas microbiológicos. *Indústria de Celulose e Papel,* 2015;103-195.

52. Pratima B. O controle de problemas microbiológicos. *Coleção Elsevier Public Health Emergency,* 2015;103–195.

53. Knapp JE, & Bettisti DL. *Desinfecção, Esterilização e Preservação* (5ª ed.). (SS

Machine Tra

Block, Ed.) Filadélfia, EUA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

54. Simpson G, Miller RF, Laxton GD e Clements WR. *Um foco no dióxido de cloro: o "ideal"* *Biocida.* Nova Orleans, EUA, 1993.

55. Gunn JS, Bakaletz LO e Wozniak DJ. O que está do lado de fora importa: o papel da substância polimérica extracelular dos biofilmes Gram negativos na evasão da imunidade do hospedeiro e como alvo para intervenção terapêutica. *Jornal da química biológica.* 2016;291(24), 12538–12546.

56. Ramos-Gallardo G. Feridas crônicas em queimaduras: relato de caso sobre a importância dos biofilmes. *Jornal Mundial de cirurgia plástica,* 2016;5(2), 175.

57. Salão CW, & Mah TFM. Mecanismos moleculares de resistência e tolerância a antibióticos baseados em biofilme em bactérias patogênicas. *FEMS Microbiology Reviews,* 2017;41(3), 276-301.

[PubMed] 58. Insignares-Carrione E, Bolano Gomez B, Andrade Y, Callisperis P, Suxo MA, Arthur MA, & Camila GO. Determinação da eficácia do dióxido de cloro no tratamento de COVID-19. *Journal of Molecular and Genetic Medicine.* 2021;15, S2

59. Noszticzius Z, Wittmann M, Kály-Kullai K, Beregvári Z, Kiss I, Rosivall L, & Szegedi J. O dióxido de cloro é um agente antimicrobiano seletivo por tamanho. *PLoS One,* 2013;8(11), e79157.

60. Miura T, & Shibata T. Efeito antiviral do dióxido de cloro contra o vírus da gripe e sua aplicação para controle de infecções. *O Jornal de Agentes Antimicrobianos Abertos.* 2010;2, 1.

61. Sanekata T, Fukuda T, Miura T, Morino U, Lee C, Maeda K, Shibata T. Avaliação da atividade antiviral de dióxido de cloro e hipoclorito de sódio contra calicivírus felino, vírus influenza humano, vírus do sarampo, vírus da cinomose canina, vírus humano herpesvírus, adenovírus humano, adenovírus canino e parvovírus canino. *Biocontrol Science,* 2010;15(2), 45-49.

62. Ma JW, Huang BS, Hsu CW, Peng CW, Cheng ML e Kao JY. Avaliação da Eficácia e Segurança de uma Solução de Dióxido de Cloro. *Jornal Internacional de Pesquisa Ambiental e Saúde Pública.* 2017;14(3), 329.

63. Ofori I, Maddila S, Johnson L, & Jonnalagadda SB. Inativação de dióxido de cloro de Pseudomonas aeruginosa e Staphylococcus aureus em água: A cinética e o mecanismo. *Revista de Engenharia de Processamento de Água.* 2018;26, 46–54.

64. Ogata N, & Shibata T. Efeito protetor do gás dióxido de cloro de baixa concentração contra a infecção pelo vírus influenza A. *O Jornal de Virologia Geral.* 2008;89, 60-67.

65. Georgiou G. Erradicação de MRSA usando dióxido de cloro. *Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access,* 2021;9(3), 115-120.

66. Jovem RO. Dióxido de Cloro (CLO2) Como Agente Antimicrobiano Não Tóxico para Vírus, Bactérias e Leveduras (Candida Albicans). *International Journal of Vaccines & Vaccination, 2016, outubro* 8;2(6), 11-12.

67. Vobolex. *Lei Boliviana LEI NO. 1351.* 2020, 14 de outubro. Extraído de Vobolex: https://www.vobolex.org/bolivia/law-no-1351-of-october-14-2020/

68. Aparicio-Alonso M, Domínguez-Sánchez CA, & Banuet-Martínez M. COVID19 Efeitos de longo prazo em pacientes tratados com dióxido de cloro. *REVISTA INTERNACIONAL DE PESQUISA E ANÁLISE MULTIDISCIPLINAR.* 2021;4, 1159-1167.

69. Daniel FB, Condie LW, Robinson M, Stober JA, York GR, Olsen RG e Wang S R. Estudos comparativos de toxicidade subcrônica de três desinfetantes. *Jornal da American Water Works Association. 1990;82(10),* 61-69.

70. Scatina J, Abdel-Rahman MS, & Gold E. O efeito inibitório de alcide®, uma droga antimicrobiana, na síntese de proteínas em Escherichia coli. *Jornal de Toxicologia Aplicada.* 1985;5(6), 388-394.

ATTC - products/ https://www.atcc.org/microbe 71. bacteriology-and archaea#t=productTab&numberOfResults=24

72. https://logosbio.com/

73. Noszticzius Z, Wittmann M, Kály-Kullai K, Beregvári Z, Kiss I, Rosivall L, & Szegedi J. O dióxido de cloro é um agente antimicrobiano seletivo por tamanho. *PLoS One,* 2013;8(11), e79157.

74. Georgiou G. Erradicação de Borrelia Burgdoferi *in vitro* usando Dióxido de Cloro: Uma Nova Abordagem, Arquivos de Pesquisa Médica. 2022;[online] 10(11). https://doi.org/10.18103/mra.v10i11.3279

75. Diário Oficial da Bolívia. *LEI Nº 1351.* 2020, 14 de outubro. Retirado da Derechoteca: https://www.derechoteca.com/gacetabolivia/lei-no-1351-de-14-outubro-2020/

76. Humble J. (acesso 2023). *Testemunhos MMS.* Extraído dos depoimentos do MMS: https://mmstestimonials.co/